Caracterización histomorfológica de la piel de especies de *Leptodactylus* del grupo *fuscus* (Anura: Leptodactylidae), destacando la capa de Eberth-Katschenko

Gladys F. Garcia[1]; Paola I. Cruz[1]; Susana Mangione[2]

[1] Anatomía Comparada, Laboratorio 102, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Avda. Bolivia 5150, (4400) Salta, Argentina, email: gladysbiologa@gmail.com

[2] Instituto de Morfología Animal, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

➤ **Resumen** — En este estudio, se realiza un análisis del tegumento dorsal y ventral, con especial interés en la capa de Ebert-Katschenko, en especies de *Leptodactylus* del grupo *fuscus* del noroeste de Argentina: *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799); *L. gracilis* (Duméril y Bibron, 1840); *L. latinasus* Jiménez de la Espada 1875 y *L. elenae* Heyer 1978. Los resultados muestran que existen variaciones morfológicas de la capa de Ebert-Katschenko entre estas especies. Se verifica además la ocurrencia de variaciones intraespecíficas en ejemplares provenientes de regiones biogeográficas diferentes (Chaco Serrano y Yunga).

Palabras clave: *Leptodactylus*, grupo *fuscus*, capa de Eberth-Katschenko, tegumento, histología.

➤ **Abstract** — "Histomorphological characterization of the skin of *Leptodactylus* species from the *fuscus* group (Anura: Leptodactylidae), emphasizing the Eberth-Katschenko layer". In this study, we present an analysis of the dorsal and ventral integument, with emphasis on the Ebert-Katschenko layer, of *Leptodactylus* species from the *fuscus* group from northwestern Argentina: *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799); *L. gracilis* (Duméril and Bibron, 1840); *L. latinasus* Jiménez de Espada 1875 and *L. elenae* Heyer 1978. The results show that there exist morphological variations in the Eberth-Katschenko layer among these species. In addition, intraspecific variations in specimens coming from different biogeographic regions (Chaco Serrano and Yunga) are reported.

Keywords: *Leptodactylus*, *fuscus* group, Eberth-Katschenko layer, integument, histology.

INTRODUCCIÓN

El tegumento de anfibios adultos tiene novedades tisulares y fisiológicas primordiales relacionadas con el modo de vida terrestre. Es una piel que protege contra la desecación mediante la formación de una capa córnea y glándulas tegumentarias ectodérmicas mucosas que mantienen la superficie del tegumento húmeda. La piel tiene, además, funciones de defensa y ataque mediadas por toxinas cutáneas originadas en glándulas serosas (Barthalmus, 1994). El tegumento en los anfibios es también un importante órgano excretor y respiratorio porque permite intercambios iónicos y es permeable a los gases (Boutilier *et al*., 1992).

Recibido: 14/10/10 – Aceptado: 21/04/11

La matriz fundamental de la dermis, está compuesta por glucosaminoglucanos en unión covalente con proteínas con radicales sulfatos y/o carboxilos; contiene además fibras colágenas y elásticas. La piel de los anfibios suele poseer un elemento estructuralmente característico, la capa de Eberth-Katschenko (E-K), que es una zona de la dermis donde se precipitan sales de calcio y fósforo en la matriz fundamental. La misma ha sido descripta como una zona acelular (Elkan, 1968; Azevedo *et al*., 2005). En la capa de E-K, se depositan los minerales sin relación morfológica con las fibras, suspendidos en la sustancia fundamental dérmica (Katchburian *et al*., 2001). La ubicación de la capa de E-K en la dermis puede ser superficial, interpuesta entre la dermis externa (laxa) y la dermis profunda (compacta). En

algunas especies, la capa de E-K es doble observándose una lámina extra en la zona supra hipodérmica (Mangione y Lavilla, 2004). La capa de E-K ha sido reportada en una amplia diversidad de especies, incluyendo varios discoglossidos, pelobatidos, microhylidos, ranidos, bufonidos, hílidos, dendrobátidos, y ceratofrinos (Vickaryous y Sire, 2009; Mangione *et al*., 2011). Sin embargo, existen vacíos de información respecto a su presencia en muchos grupos de anuros como es el caso de especies de *Leptodactylus* pertenecientes al grupo *fuscus*.

La familia *Leptodactylidae* es parafilética. Sin embargo, la monofilia del grupo *fuscus* está bien soportada dentro del género *Leptodactylus* (Ponssa, 2002). Este grupo está representado por aproximadamente 20 especies (Frost, 2007), de las cuales 8 se encuentran en Argentina y sólo en una de ellas, *Leptodactylus mystacinus*, se describió la capa de E-K (García y Cardozo, 2005).

El objetivo de este trabajo es aportar información sobre la constitución histomorfológica tegumentaria, particularmente de la capa de E-K, de cuatro especies del grupo *fuscus*: *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799); *L. gracilis* (Duméril y Bibron, 1840); *L. latinasus* Jiménez de la Espada, 1875 y *L. elenae* Heyer, 1978. Debido a que algunos autores señalan a las condiciones ambientales como posibles causantes de variaciones morfológicas en la capa de E-K, se analizó además posibles variaciones intraespecíficas en ejemplares provenientes de regiones geográficas distintas. Se analizó el tegumento de dos de las especies, *L. fuscus* y *L. latinasus*, provenientes de dos áreas geográficas diferentes, las regiones Yunga y Chaco Serrano (Cabrera, 1976).

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron con microscopía óptica muestras de piel de ejemplares adultos machos de *Leptodactylus fuscus*, *L. gracilis*, *L. latinasus* y *L. elenae* pertenecientes a la Colección Herpetológica del Museo de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta y registrados con los números MCN 344, MCN 342, MCN 335 y MCN 366, respectivamente. Los ejemplares provenían del Parque Nacional Calilegua ubicado entre los 23°27’ y 23°56’ de latitud Sur y entre los 64° 33’ y 65°02’ de longitud Oeste. Los ejemplares identificados como MCN 720 y MCN 899 (*L. fuscus* y *L. latinasus*, respectivamente) provenían de Salta, Departamento Capital, 24°45’23” de latitud Sur y 65°24’43” de longitud Oeste.

Los especímenes se fijaron en solución de formaldehído 10 % y conservados en alcohol 70 %. Muestras de piel de las regiones medio dorsal y ventral se deshidrataron en series ascendentes de alcohol etílico y se infiltraron en paraplast. Se realizaron cortes transversales a la superficie del tegumento de 6 μm de espesor con micrótomo de deslizamiento. Las coloraciones utilizadas fueron: Hematoxilina–Eosina y Tricrómico de Gallego (Vívoli, 1969). La hematoxilina se preparó con la fórmula de Ehrlich (1886) según McManus y Mowry (1968) y la eosina al 1 % en alcohol etílico 50°. Los preparados histológicos de referencia se encuentran depositados en la colección Histológica del Proyecto 1609 - CIUNSa de la Cátedra de Anatomía Comparada de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta.

Se realizaron mediciones micrométricas de cada uno de los estratos tegumentarios y el espesor total del mismo en zonas elegidas al azar que incluyeron regiones con glándulas y regiones sin glándulas. Se realizó el conteo de capas celulares en base al número de núcleos observados, obteniéndose un valor aproximado para cada zona. Los datos micrométricos de las pieles se registraron en varias Tablas (ver Resultados). Para los análisis estadísticos, se aplicó la prueba “t” de Student para muestras independientes y para muestras apareadas. Para los datos que no tenían una distribución normal, se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras apareadas. En todas las pruebas estadísticas, los datos fueron analizados con el software estadístico InfoSat (2003) con una probabilidad $\alpha = 0{,}05$.

Las fotografías se obtuvieron con cámara digital adaptada a microscopio óptico.

Abreviaturas usadas en este trabajo:
E-K: Eberth-Katschenko.
PNC: Parque Nacional Calilegua, provincia de Salta, Argentina.
SC: Salta, departamento Capital, Argentina.

RESULTADOS

La epidermis es una formación epitelial con tres estratos bien diferenciados: la capa superficial o estrato córneo descamante, constituido por una única capa de células que periódicamente se desprende en la muda, lo cual se observó en todas las muestras, la capa intermedia que corresponde a un estrato espinoso típico y la capa basal o germinativa que descansa sobre la lámina basal.

Prolongaciones digitiformes de melanóforos ubicados en la dermis infiltran la epidermis en la piel dorsal de *Leptodactylus fuscus, L. gracilis y L. elenae* con melanosomas que están ausentes en la epidermis dorsal de *L. latinasus.* Otro cromatóforo presente aunque en menor cantidad, es el iridóforo. En la epidermis de la piel ventral de todas las especies, los melanóforos están ausentes. Por debajo de la epidermis, tanto en la piel dorsal como en la ventral del cuerpo, se diferencia el *corium* en sus dos modalidades: el estrato externo o laxo y el estrato interno o compacto. La dermis compacta está atravesada por paquetes de fibras colágenas perpendiculares a la superficie del cuerpo del animal y unen la capa subcutánea con la dermis esponjosa. Dichos paquetes de fibras colágenas ascendentes están acompañados ocasionalmente por cromatóforos y células aisladas de músculo liso.

La capa E-K está presente en todas las especies según la modalidad que se detalla más abajo y tiene una textura prácticamente homogénea. En muy pocas zonas, puede observarse con una fina granulación. Se destaca la presencia de células asociadas en los límites de la E-K.

Leptodactylus fuscus
(Figs. 1 y 2)

Se presenta una síntesis de los resultados en las Tablas 1 (tegumento dorsal) y 2 (tegumento ventral). En los ejemplares de PNC, el número de capas celulares epidérmicas de la piel dorsal es de tres estratos mientras que en los ejemplares de SC, en algunas regiones, tiene 3, y en otras, 6 capas. En la zona ventral del cuerpo en los ejemplares de PNC, la epidermis posee 3 a 4 capas celulares, mientras que en los ejemplares de SC, el número de capas es 8.

En el tegumento de la región dorsal de los ejemplares procedentes de estas dos zonas geográficas, se encontraron diferencias significativas para: los espesores de la epidermis, los del estrato laxo sin glándulas y en los del estrato compacto, diferencias que

Tabla 1. Análisis estadístico del tegumento dorsal de *Leptodactylus fuscus* del Parque Nacional Calilegua (PNC), provincia de Salta, y Salta, capital (SC), Argentina. Espesores promedio expresados en µm. Espesores seguidos por letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas (p) según la prueba t (para muestras independientes). (*) Datos analizados con la prueba de Wilcoxon. NS: no significativo.

	Epidermis	Dermis laxa s/glándulas	Dermis laxa c/glándulas	Dermis compacta	Capa de E-K	Total tegumento
L. fuscus PNC	22 A	40 A	42 A	87 A	2,50 A	128 A
L. fuscus SC	16 B	15 B	29 A	47 B	5,25 B	89 B
t	2,64	6,77	1,55	6,56		2,28
p	0, 02	<0,0001	NS	<0,0001	0,002*	0,05

se manifiestan también en los espesores totales del tegumento (Tabla 1). Sin embargo, en la piel de la región ventral, sólo se detectaron diferencias significativas en los espesores del estrato laxo y el espesor total del tegumento (Tabla 2).

La capa de E-K en los ejemplares del PNC es delgada y de baja densidad tanto en la región dorsal del tegumento como en la ventral (2,5 μm). Se observa con frecuencia en la región dorsal, núcleos de células asociadas a la capa de E-K, no así en la región ventral. En la región dorsal, la capa de E-K es doble en la piel de ejemplares de SC y es simple en los de PNC. En éstos, la primera lámina es continua y se ubica entre el estrato laxo y el compacto. La segunda capa se dispone por debajo del estrato compacto como depósitos irregularmente discontinuos. La capa de E-K externa es significativamente más espesa en este ejemplar de SC que la observada en los especimenes provenientes de PNC (Tabla 1) y no se observaron células estrechamente relacionadas a ellas. En el tegumento de la región ventral del cuerpo de los animales provenientes de SC, esta capa es significativamente más gruesa que en los de PNC (Tabla 2).

Leptodactylus gracilis
(Figs. 3 y 4)

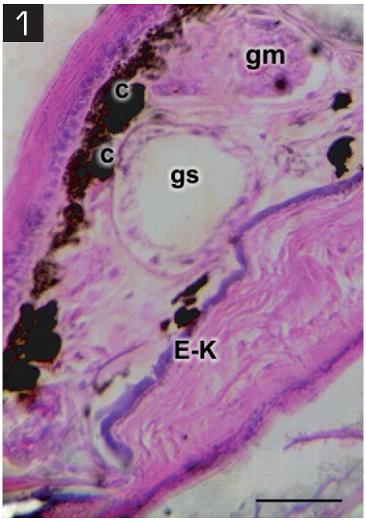
Los datos para *L. gracilis* se registran en las Tablas 3 y 4. La epidermis de la región dorsal tiene de 4 a 6 capas celulares mientras que la ventral tiene de 6 a 7 capas, aproximadamente. La capa de E-K en la re-

Tabla 2. Análisis estadístico del tegumento ventral de *L. fuscus* del PNC y SC. Espesores promedio expresados en μm. Espesores seguidos por letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas (p) según la prueba t (para muestras independientes). (*) Datos analizados con la prueba de Wilcoxon. NS: no significativo.

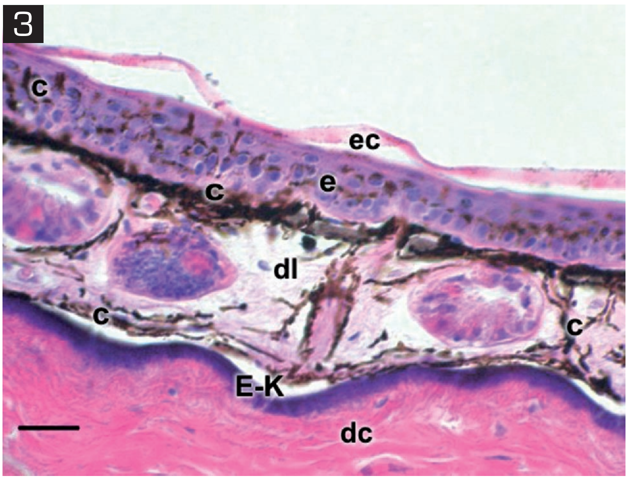
	Epidermis	Dermis laxa s/glándulas	Dermis laxa c/glándulas	Dermis compacta	Capa de E-K	Total tegumento
L. fuscus PNC	17 A	24 A	33 A	28 A	2,50 A	76 A
L. fuscus S-C	18 A	13 B	22 B	30 A	4 B	66 B
t	-0,59	3,03	2,46	-0,73		2,74
p	NS	0,01	0,02	NS	0,004*	0,01

Tabla 3. Espesor promedio de la piel en 4 especies de *Leptodactylus* (PNC). Medidas expresadas en μm.

	Región del cuerpo	Epidermis	Dermis laxa s/glándulas	Dermis laxa c/glándulas	Dermis compacta	Total tegumento	Hipodermis
L. fuscus	dorsal	22	40	42	87	128	61
	ventral	17	24	33	28	76	7
L. gracilis	dorsal	23	46	58	72	192	16
	ventral	44	38	43	58	164	20
L. latinasus	dorsal	18	14	23	64	115	20
	ventral	21	15	25	39	78	11
L. elenae	dorsal	29	33	40	86	179	78
	ventral	31	22	44	58	122	15







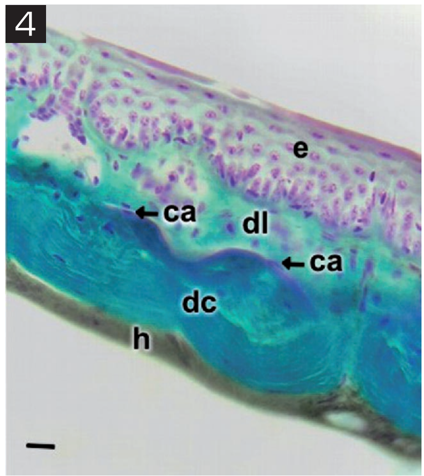


Fig. 1. Piel dorsal de *Leptodactylus fuscus* proveniente de Salta Capital (SC) con capa de Eberth–Katschenko duplicada. c: cromatóforo; E-K: capa de Eberth-Katschenko; gm: glándula mucosa; gs: glándula serosa. 100x. Hematoxilina–eosina. Barra = 17,5 µm.

Fig. 2. Piel ventral de *Leptodactylus fuscus* de Salta Capital (SC). e: epidermis; ec: estrato córneo; E-K: capa de Eberth-Katschenko; h: hipodermis; gm: glándula mucosa; gs: glándula serosa. 40x. Hematoxilina–eosina. Barra = 12,5 µm.

Fig. 3. Piel dorsal de *Leptodactylus gracilis* de Parque Nacional Calilegua (PNC). c: cromatóforo; dc: dermis compacta; dl: dermis laxa; e: epidermis; ec: estrato córneo; E-K: capa de Eberth-Katschenko. 40x. Hematoxilina–eosina. Barra = 22 µm.

Fig. 4. Piel ventral de *Leptodactylus gracilis* de Parque Nacional Calilegua (PNC). ca: célula asociada; e: epidermis; dc: dermis compacta; dl: dermis laxa; h: hipodermis. 40x. Tricrómico de Gallego. Barra = 17 µm.

gión dorsal del cuerpo es más espesa (7 μm) que la de la región ventral (5,5 μm) (Tabla 4). Ambas capas están interrumpidas por haces de fibras colágenas perpendiculares y ascendentes a la epidermis. La capa de E-K ventral posee engrosamientos abruptos y es ondulada. Las células asociadas se observan sólo en la región ventral del cuerpo.

Leptodactylus latinasus
(Figs. 5 y 6)

El registro de datos para *L. latinasus* provenientes de PNC se ven en las Tablas 3 y 4, mientras que para los ejemplares colectados en SC en las Tablas 5 y 6.

Se registraron diferencias significativas entre los ejemplares provenientes del PNC y SC en los espesores de la epidermis, en el estrato laxo, en el estrato compacto y en el total del tegumento, tanto de la piel dorsal como la ventral del cuerpo, siendo esta última donde se registraron menos diferencias (Tablas 5 y 6). La epidermis de la región dorsal tiene de 3 a 4 capas celulares y en la región ventral del cuerpo tiene de 4 a 5 capas. Estas diferencias se repiten para los ejemplares de PNC y para los de SC.

La capa de E-K en la región dorsal y ventral del cuerpo es simple en los ejemplares de PNC y doble en la región dorsal del cuerpo de los de SC. La capa E-K ubicada entre el estrato esponjoso y el compacto de la dermis es más espesa (4,5 μm de promedio)

Tabla 4. Análisis estadístico de los espesores de la capa de E-K en las regiones dorsal y ventral del tegumento. Espesores seguidos por letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas (p) según la prueba t (muestras apareadas). NS: no significativo.

		Región del cuerpo	Capa de E-K		
			Espesor promedio (µm)	t	p
PNC	*L. fuscus*	dorsal ventral	2,5 2,5		
	L. gracilis	dorsal ventral	7 A 5,5 B	3,67	0,005
	L. latinasus	dorsal ventral	3,25 A 3 A	0,43	NS
	L. elenae	dorsal ventral	6,75 A 3,75 B	4,13	0.003
SC	*L. fuscus*	dorsal ventral	5,25 A 4 A	1,63	NS
	L. latinasus	dorsal ventral	4,5 A 3,5 A	1,81	NS

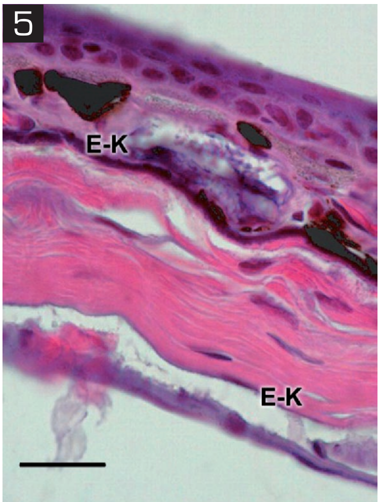
Tabla 5. Análisis estadístico del tegumento dorsal de *L. latinasus* de PNC y SC. Espesores promedio expresados en µm. Espesores seguidos por letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas (p) según la prueba t (para muestras independientes).

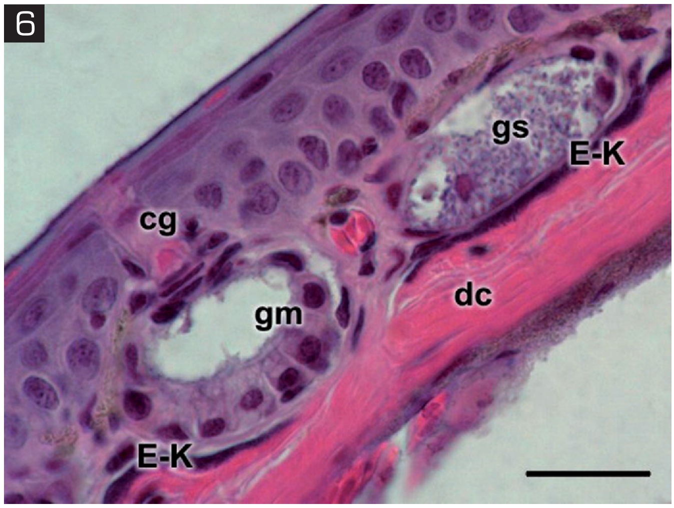
	Epidermis	Dermis laxa s/glándulas	Dermis laxa c/glándulas	Dermis compacta	Capa de E-K	Total tegumento
L. latinasus PNC	18 A	14 A	23 A	64 A	3,25 A	115 A
L. latinasus SC	14 B	19 B	29 B	29 B	4,50 B	70 B
t	3,43	-2,24	-2,58	7,66	-2,47	10,08
p	0,003	0,04	0,02	<0,0001	0,02	<0,0001

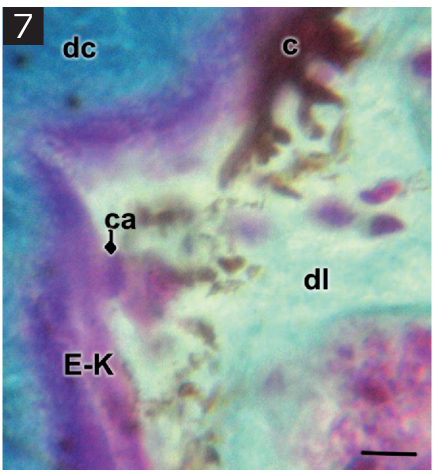
(Tabla 5). La capa más profunda entre el estrato compacto y la capa subcutánea es muy delgada. Las células asociadas a la capa de E-K se observaron en la piel de las regiones dorsal y ventral solamente en los ejemplares de PNC.

Leptodactylus elenae
(Figs. 7 y 8)

Los datos para *L. elenae* se registran en las Tablas 3 y 4. La epidermis de la región dorsal tiene alrededor de 4 a 5 capas celulares mientras que la ventral tiene de 5 a 6.







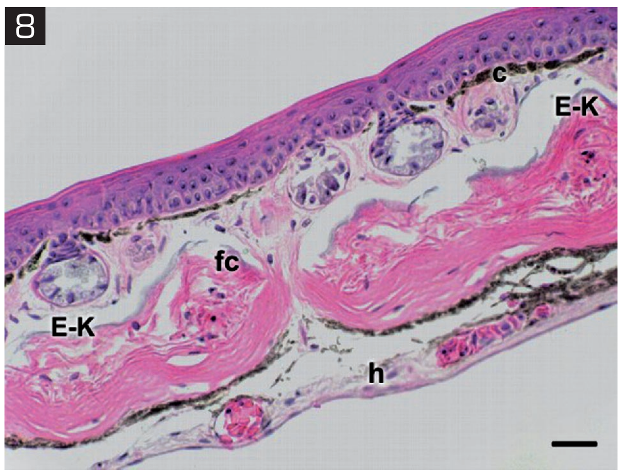


Fig. 5. Piel dorsal de *Leptodactylus latinasus* de Salta Capital (SC). E-K: capa de Eberth-Katschenko. 100x. Hematoxilina-eosina. Barra = 17 μm.

Fig. 6. Piel ventral de *Leptodactylus latinasus* de Salta Capital (SC). cg: cuello glandular; dc: dermis compacta; E-K: capa de Eberth-Katschenko; gm: glándula mucosa; gs: glándula serosa. 100x. Hematoxilina–eosina. Barra = 27 μm.

Fig. 7. Piel dorsal de *Leptodactylus elenae* de Parque Nacional Calilegua (PNC). c: cromatóforo; ca: célula asociada; dc: dermis compacta; dl: dermis laxa; E-K: capa de Eberth-Katschenko. 100x. Tricrómico de Gallego. Barra = 17 μm.

Fig. 8. Piel ventral de *Leptodactylus elenae* de Parque Nacional Calilegua (PNC). c: cromatóforo; E-K: capa de Eberth-Katschenko; fc: fibras ascendentes de colágena; h: hipodermis. 40x. Hematoxilina–eosina. Barra = 20 μm.

Tabla 6. Análisis estadístico del tegumento ventral de *L. latinasus* de PNC y SC. Espesores promedio expresados en µm. Espesores seguidos por letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas (p) según la prueba t (para muestras independientes). NS: no significativo.

	Epidermis	Dermis laxa s/glándulas	Dermis laxa c/glándulas	Dermis compacta	Capa de E-K	Total tegumento
L. latinasus PNC	21 A	15 A	25 A	39 A	3 A	78 A
L. latinasus SC	27 B	13 A	27 A	22 B	3,5 A	68 B
t	-3,07	0,74	-0,73	5,05	-0,95	2,11
p	0,007	NS	NS	0,0001	NS	0,05

La capa de E-K en la región dorsal del cuerpo es más espesa y densa que en la de la región ventral (Tabla 4) y se observa bien definida y con ondulaciones. En cambio, la capa E-K del tegumento de la región ventral es delgada y con pocas ondulaciones. Las células asociadas a esta capa se observan sólo en la región dorsal.

DISCUSIÓN

La piel de las especies del *grupo fuscus* consideradas en este estudio exhiben las características generales del tegumento descriptas para otros anuros (Porto, 1936; Toledo y Jared, 1993; Duellman y Trueb, 1994; De Brito-Gitirana y Azevedo, 2005; Azevedo *et al.*, 2006). Tal como menciona Schwinger *et al.* (2001), generalmente la piel de la región dorsal tiene mayor espesor que la piel de la región ventral.

Nuestros resultados coinciden con Porto (1936) y Brown *et al.* (1981) acerca de que el espesor y el número de capas de la epidermis varían entre las especies y la región del cuerpo. Además, en *Leptodactylus fuscus* y *L. latinasus*, se observan variaciones intraespecificas respecto a estos caracteres ya que en los ejemplares provenientes del PNC, la epidermis es más espesa, a pesar de tener un número menor de capas celulares que en los ejemplares de la misma especie provenientes de SC. Estas variaciones serían el resultado de la diversificación en el volumen de las células epidérmicas.

Los paquetes de fibras colágenas perpendiculares que atraviesan la dermis en las especies analizadas también han sido descriptos por Porto (1936) en *Rhinella arenarum* (= *Bufo arenarum*), por Schwinger *et al.* (2001) en *Rhinella marina* (= *B. marinus*), por Azevedo *et al.* (2005) en *Rhinella icterica* (= *B. ictericus*), por García y Cardozo (2005) en *Leptodactylus mystacinus* y por Felsemburgh, *et al.* (2007) en *Proceratophrys boiei*, *P. laticeps*, *P. appendiculata* y *Odontophrynus americanus*.

La capa de E-K está presente en las cuatro especies de *Leptodactylus* consideradas. A esta capa se le atribuyen diversas funciones. Según Elkan (1968), actuaría como regulador hídrico, retardando la desecación mientras el animal se encuentra en la tierra expuesto al calor y a corrientes de aire seco. Sin embargo, la presencia de una segunda capa, vista en ejemplares de *Leptodactylus fuscus* y *L. latinasus* de SC, parecería no estar relacionada con una función de retención o conservación del agua, por su posición profunda en la dermis (Toledo y Jared, 1993).

El grosor de la capa de E-K es variable entre las especies analizadas. Es significativamente más gruesa en la región dorsal del cuerpo que la ventral de *Leptodactylus gracilis* y *L. elenae*, coincidiendo con la generalidad planteada para anuros (Elkan, 1968;

Toledo y Jared, 1993). Sin embargo, en *L. fuscus* y *L. latinasus* no presenta diferencias significativas.

Se observan diferencias intraespecíficas entre los ejemplares provenientes de PNC y los de SC, en *Leptodactylus fuscus* y *L. latinasus*. Los ejemplares de ambas especies de Salta presentan en la región dorsal del cuerpo la capa de E-K de mayor grosor y tienen además, una segunda capa ubicada entre el estrato compacto y la hipodermis. Porto (1936) reportó que en *Rhinella arenarum* (= *Bufo arenarum*) el espesor de la capa varía con las estaciones del año, siendo más gruesa en primavera. Es importante señalar que los ejemplares de *Leptodactylus latinasus* procedentes de PNC fueron colectados durante el verano y los procedentes de la ciudad de SC se colectaron en primavera, lo que podría interpretarse como una modificación morfológica relacionada con la época del año. Sin embargo, los ejemplares de *L. fuscus* procedentes de estas dos localidades también mantienen diferencias en la capa de E-K pero ambos fueron colectados en verano. Estos resultados ponen en duda las posibles variaciones estacionales, al menos en estas especies, por lo cual sería necesario estudiar la morfología de la capa calcificada durante las diferentes estaciones del año en ambas localidades para poder emitir alguna hipótesis consistente al respecto. Según analiza Elkan (1968), la duplicación de la capa se debe a mayores concentraciones de calcio, consecuentes a un estado fisiológico transitorio y reversible o, a un carácter permanente de la especie. La variación en el número de capas presentes en dos de las especies pone en duda que corresponda a un carácter especie-específico. Por lo tanto, sería necesario realizar investigaciones morfo-fisiológicas para interpretar este interesante fenómeno. Este mismo autor, asevera que la edad del animal también afecta la densidad de la capa, ya que está ausente en las etapas de renacuajos de *Rana temporaria* y *Pseudis paradoxa*. En especímenes juveniles sólo se observaron rastros de ella y en individuos de mayor edad es mucho más abundante. García y Cardozo (2005) reportan que la capa de *Leptodactylus mystacinus*, también perteneciente al grupo *fuscus*, aparece durante la metamorfosis y modifica su espesor en los organismos adultos. En contraste, Kaltenback *et al*. (2004), la ha descrito doble y bien definida en los primeros estadios larvales de *Lithobates castebeianus* (= *Rana catesbeiana*). En esta especie, durante la metamorfosis comienza a ser discontinua y menos notable y en el adulto se fragmenta observándose débilmente teñida. En las especies del grupo *fuscus* aquí estudiadas se utilizaron especímenes adultos, en los cuales no se determinó la edad. Por ello, no es posible aseverar que este factor influye en la presencia de la capa y tampoco en la aparición de una segunda capa en *L. fuscus* y *L. latinasus* provenientes de SC. Sería interesante analizar en qué momento de las diferentes etapas del desarrollo surge la segunda capa para establecer si existe o no variación intraespecífica dentro del grupo. Por otra parte, análisis intraespecíficos en ejemplares procedentes de áreas biogeográficas diferentes, no han sido reportados hasta el momento como referente de comparaciones.

La capa de E-K constituida principalmente por glucosaminoglucanos y sales de calcio y fósforo posee una estructura acelular (Elkan, 1968; Azevedo *et al*., 2005). No obstante, en algunas de las especies examinadas, se han observado células en las cercanías de esta capa. Se ha reportado en *Bufo bufo* la presencia de fibroblastos que contienen grandes acumulaciones de calcio en sus organelas, los cuales podrían estar involucrados en la regulación de los niveles de ese catión, capturándolo desde los tejidos circundantes para proporcionarlo a dicha capa y viceversa (Toledo y Jared, 1993). Estas mismas células fueron observadas por Mangione *et al*., (2011) en especies de ceratofrinos. Algunos autores (Katchburian *et al*., 2001; Mangione *et al*., 2011) consideran que la capa calcificada representa una estructura vestigial correspondiente a un esqueleto dermal presente en anfibios ancestrales. De acuerdo a esta hipótesis, la capa de E-K sería homóloga en todos los grupos de anuros. Sin embargo, esta hipótesis merece ser testeada

en un número mayor de familias con análisis filogenéticos que pudieran indicar una tendencia evolutiva de la misma.

CONCLUSIONES

1. La capa de E-K está presente tanto en el tegumento de la región dorsal como ventral del cuerpo en todas las especies analizadas.

2. La capa de E-K es más gruesa en la piel de la región dorsal del cuerpo en *Leptodactylus gracilis* y *L. elenae* mientras que en *L. fuscus* y en *L. latinasus* no existen diferencias entre ambas regiones.

3. Existen diferencias intraespecíficas en *Leptodactylus fuscus* y *L. latinasus* de PNC y los de SC. Los ejemplares de Salta presentan en el tegumento dorsal la capa de E-K más gruesa y tienen una segunda capa más profunda.

4. Se observaron células asociadas a la capa de E-K.

Si bien el estudio de la capa de E-K, tal como lo ha expresado Toledo y Jared (1993), lleva más de 120 años, su origen y función siguen siendo un enigma y aún son muchas las especies de anuros donde no se ha confirmado su presencia.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta que subsidió parcialmente este trabajo, a la Fundación Miguel Lillo que facilitó equipos para la realización de los cortes histológicos y a Leonardo Juane por su colaboración en la revisión del abstract.

LITERATURA CITADA

Azevedo, R. A., Santana, A. S. J. y de Brito-Gitirana, L. 2006. Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument (Anura, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. Micron, 37: 223-228.

Azevedo, R. A., Pelli, A. A., Ferreira- Pereira, A., Santana, A. S. J., Felsemburgh, F. y de Brito-Gitirana, L. 2005. Structural aspects of the Eberth-Katschenko layer of *Bufo ictericus* integument: histochemical characterization and biochemical analysis of the cutaneous calcium (Amphibian, Bufonidae). Micron, 36: 61-65.

Barthalmus, G. 1994. Biological roles of amphibian skin secretions. En: H. Heatwole and G. T. Barthalmus (eds.), Amphibian Biology. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, NSW, Australia, pp. 382-410.

Boutilier, R. G., Stiffler, D. F. y Toews, D. P. 1992. Exchange of respiratory gases, ions and water in amphibious and aquatic amphibians. En: M. E. Feder y W. W. Burggren (eds.), Environmental Physiology of the Amphibia. The University of Chicago Press, Chicago, pp. 81-124.

Brown, D., Grosso, A. y de Sousa, R. C. 1981. The amphibian epidermis: Distribution of mitochondria-rich cells and the effect of oxytocin. Journal of Cell Science, 52: 197-213.

Cabrera, A. 1976. Regiones fitogeográficas de la República Argentina. Enciclopedia de Agricultura, Jardinería y Fruticultura, ACME, Buenos Aires, 2: 1-85.

De Brito-Gitirana, L. y Azevedo, R. A. 2005. Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). Micron, 36 (6): 532-538.

Duellman, W. E. y Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. Integumentary, Sensory, and Visceral Systems. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 660 pp.

Elkan, E. 1968. Mucopolysaccharides in anurans defence against desiccation. Journal of Zoology, London, 155: 19–53.

Felsemburgh, F. A., Carvalho-e-Silva, S. P. y De Brito-Gitirana, L. 2007. Morphological characterization of the anuran integument of the *Proceratophrys* and *Odontophrynus* genera (Amphibia, Anuran, Leptodactylidae). Micron, 38 (5): 439-445.

Frost, D. R. 2007. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.1 (10 October, 2010). Electronic Database accessible at http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php. American Museum of Natural History, New York, USA.

García, G. F. y Cardozo, O. M. 2005. La piel premetamórfica, metamórfica y adulta de *Leptodactylus mystacinus* (Anura: Leptodactylidae). Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana, 13 (2): 54-60.

Kaltenbach, J. C., Faszewski, E. E., Nytch, K. E., Potter, C. H., Shanthakumar, N. y Fakin, A. 2004. Glycoconjugate localization in larval and adult skin of the bullfrog, *Rana catesbeiana*: A lectin histochemical study. Journal of Morphology, 261: 184-195.

Katchburian, E., Antoniazzi, M. M., Jared, C., Faria, F. P., Souza Santos, H. y Freymüller, E. 2001. Mineralized Dermal Layer of the Brazilian tree-frog *Corythomantis greeningi*. Journal of Morphology, 248: 56-63.

Mangione, S. y Lavilla, E. O. 2004. Histología de la piel de la región lumbar de las especies sin glándula lumbar del género *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae). Acta Zoológica Lilloana, 48: 37-56.

Mangione, S., Garcia. G. y Cardozo, O. M. 2011. The Eberth–Katschenko layer in three species of ceratophryine anurans (Anura: Ceratophrydae). Acta Zoologica (Stockholm), The Royal Swedish Academy of Sciences, 92: 21-26.

McManus, J. F. A. y Mowry, R. W. 1968. Técnica Histológica. Atika, S.A., Madrid, 612 pp.

Ponssa, M. L. 2002. Análisis Filogenético de las especies del grupo *fuscus* del género *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina 187 pp.

Porto, J. 1936. Contribución al estudio de la histofisiología del tegumento de los batracios. La Prensa Médica Argentina, 34: 5-53.

Schwinger, G., Zanger, K. y Greven, H. 2001. Structural and mechanical aspects of the skin of *Bufo marinus* (Anura, Amphibia). Tissue and Cell, 33 (5): 541-547.

Toledo, R. C. y Jared, C. 1993. The calcified dermal layer in Anurans. Comparative Biochemistry and Physiology, 104A (3): 443-448.

Vickaryous, M. K. y Sire, J. Y. 2009. The integumentary skeleton of tetrapods: origin, evolution, and development. Journal of Anatomy, doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.01043.x 214: 441–464.

Vívoli, F. A. 1969. Técnica Micrográfica. Rosalo, Buenos Aires, 544 pp.